

Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/JP05/004263

International filing date: 04 March 2005 (04.03.2005)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: JP
Number: 2004-61307
Filing date: 04 March 2004 (04.03.2004)

Date of receipt at the International Bureau: 21 April 2005 (21.04.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse

日本国特許庁
JAPAN PATENT OFFICE

04.03.2005

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日
Date of Application: 2004年 3月 4日

出願番号
Application Number: 特願2004-061307

パリ条約による外国への出願
に用いる優先権の主張の基礎
となる出願の国コードと出願
番号
The country code and number
of your priority application,
to be used for filing abroad
under the Paris Convention, is

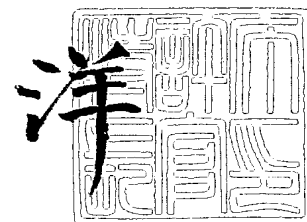
JP2004-061307

出願人
Applicant(s): 今中 良一

2005年 4月 7日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

小川



【書類名】 特許願
【整理番号】 S20404
【あて先】 特許庁長官殿
【国際特許分類】 C12M 1/00
【発明者】
 【住所又は居所】 大阪府枚方市楠葉美咲 3 - 2 - 6
 【氏名】 今中 良一
【発明者】
 【住所又は居所】 京都府京都市左京区黒谷町 2 3 番地
 【氏名】 湊 小太郎
【発明者】
 【住所又は居所】 大阪府枚方市禁野本町 2 - 1 1 - 2 7 2 6
 【氏名】 杉浦 忠男
【特許出願人】
 【識別番号】 503169378
 【氏名又は名称】 今中 良一
【代理人】
 【識別番号】 100081536
 【弁理士】
 【氏名又は名称】 田村 巖
 【電話番号】 06-6864-3137
【手数料の表示】
 【予納台帳番号】 020086
 【納付金額】 21,000円
【提出物件の目録】
 【物件名】 特許請求の範囲 1
 【物件名】 明細書 1
 【物件名】 図面 1
 【物件名】 要約書 1

【書類名】 特許請求の範囲**【請求項 1】**

基板にプリグループを設け、前記プリグループ上にプローブDNAと接着性が良好な薄膜を設けた上で、前記プリグループの凸部または凹部にプローブDNAを含む液滴を配置して、液滴の表面張力によってグループに直角方向の広がり制限された状態でプリグループの接線方向に広がり、その状態でプローブDNAを前記基板上に固定させていることを特徴とするDNAマイクロアレイ。

【請求項 2】

前記基板にプリグループを設け、前記プリグループの凸部または凹部に前記プリグループの番地情報を設けたことを特徴とする請求項 1 記載のDNAマイクロアレイ。

【請求項 3】

前記基板上にはDNAスポットをスパイラル状、あるいは同心円状に配置することを特徴とする請求項 1 記載のDNAマイクロアレイ。

【請求項 4】

前記基板上に回転位相を示すマークを設けたことを特徴とする請求項 3 記載のDNAマイクロアレイ。

【請求項 5】

前記DNAマイクロアレイ基板におけるプローブDNAの設置領域について、そのプリグループ上の接線方向の長さがそれに垂直な方向の幅に対して 2 倍以上であることを特徴とするDNAマイクロアレイ基板。

【請求項 6】

DNAマイクロアレイ基板上に反射膜を設け、前記反射膜上に前記基板の屈折率より小さく、空気の屈折率よりも大きな光透過膜を少なくとも 1 層以上設け、前記DNAマイクロアレイ基板上にプローブDNAを含む液滴をスポッティングしたことを特徴とするDNAマイクロアレイ基板。

【請求項 7】

前記基板上に薄膜からなる層を少なくとも 1 層以上設け、基板側から波長 λ_1 のレーザービームを照射し、プリグループの位置を検出するときには前記基板を前記照射したレーザービームの一部は透過し、前記基板上に配置されたDNAスポットを計測するために、検出波長 λ_2 のレーザービームを基板の反対側から照射したときには、一部が反射することを特徴とするDNAマイクロアレイ基板。

【請求項 8】

前記基板上のプリグループの凸部または凹部に、プローブDNAを含む液滴を配置するために、1) 前記プリグループの位置を検出する機構、2) プローブDNAを含む液滴を吐出できる機構により、プリグループ上にプローブDNAを含む液滴を配置することを特徴とするDNAマイクロアレイを作成するためのスポッティング装置。

【請求項 9】

前記プリグループに対物レンズを経由してレーザー光を照射し、反射光を第 1 の光検出器により受光し、前記対物レンズの出射光が前記プリグループに追従するように前記対物レンズの位置を制御可能にしたトラッキングサーボを構成したうえ、前記プリグループにスポッティング液を吐出する装置を設け、前記吐出装置の吐出口と前記プリグループの相対位置を検出するために、前記プリグループを透過した光を検出する第 2 の、少なくとも 2 分割セルを有する光検出器を設け、前記第 2 の光検出器の 2 分割セルの各出力の差を得るための差動増幅器出力を用い、前記トラッキングサーボを構成する光学ブロックと、前記吐出装置と第 2 の光検出器を一体に移動制御するトラバースユニットモータを駆動制御し、前記吐出装置から吐出するスポッティング液を前記プリグループ上に配置することを特徴とするスポッティング装置。

【請求項 10】

スポッティング液を入れたタンクに前記スポッティング液の名前を読み取るための標識を設け、スポッティング時にスポッティング装置により前記標識を読み取り、前記スポッテ

インク液をアドレス情報を有するプリグループ上に、スポットティングし、前記標識および前記アドレス情報の対応関係をスポットティングした基板上に記録したことを特徴とするスポットティング装置。

【書類名】明細書

【発明の名称】DNAマイクロアレイ及びスポッティング装置

【技術分野】

【0001】

本発明は、DNAマイクロアレイおよびDNAマイクロディスクの構成およびスポッティング装置に関する。

【背景技術】

【0002】

DNAマイクロアレイはスライドガラスなどの基板上に、数千個のDNAプローブを固定したもので、蛍光分子等で標識した試料（ターゲット）を流し、DNAプローブとハイブリタイズさせて、ハイブリッド形成による蛍光発光の強弱を測定して、試料に含まれる遺伝子の発現量を推定するものである。

これによって、多数の遺伝子の発現を同時に網羅的に分析できることから、生命科学や薬学、農学の分野の研究開発に基盤的な標準的機器として普及している。たとえば、ある薬剤に反応するガン組織と反応しないガン組織からmRNA（メッセンジャーRNA）を抽出して、両者の発現量の差を全ヒト遺伝子の載ったDNAマイクロアレイによって推定すれば、そのガン組織と薬剤に特異的な遺伝子発現が判明する。これを用いてその遺伝子をターゲットに発症機序の解明や創薬研究を効率的に実施することができる。

【0003】

ポストゲノムシーケンスの時代に入って、遺伝子発現の網羅的計測の必要性は、いわゆるテーラメード医療や医学分野における臨床検査はもちろん、食品検査や生産品質管理などのニューバイオ産業に広がり、今後いわゆるDNAマイクロアレイ市場はきわめて大きな拡大が予想されている。

主流となっている型式には、光リソグラフィ技術と固相法DNA合成技術によりシリコン基板上にオリゴヌクレオチドを垂直に積み上げたアフィメトリックス型と、スライドガラス上にDNAを貼り付けるいわゆるスタンフォード型の2つがある。前者はあらかじめ遺伝子を選択して発注設計製造依頼しなければならず高価であるが、後者は利用者が使用環境でスポットする遺伝子を自由に選べる利点がある。本発明において、プローブDNA（DNAスポットとも呼ぶ）とは、前記したアフィメトリックス型と、スタンフォード型、あるいはその他の形式のプローブDNAを意味するものである。

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

現在のDNAマイクロアレイは、図11に示すように、ガラス板112上に、2次元格子状に配列されているDNAスポット列111の蛍光を、レーザ走査ないし映像計測手段によって画像化して読み取っている。2自由度の計測が必要で装置が複雑になり、また後処理として蛍光信号の補正や雑音軽減のための計算機画像解析処理が必要である。スライドガラスの代わりにビーズを使ったものや、多孔性の媒質を用いた装置もあるが、扱える遺伝子数がせいぜい数100種類程度で網羅性にかける。

【0005】

しかしながら、DNAマイクロアレイを解析するためのスポッター、ハイブリダイゼーション、およびスキャナーからなるシステムは、定量性と感度の点において課題の多いものである。

現在の課題を箇条書にすると、

1. 蛍光測定の感度が悪い
2. 読み取りに時間がかかる
3. 2次元走査による画像化が必要
4. 操作性が悪い
5. 1枚のガラス基板に配置するDNAスポット数が十分でない（高々1万スポット）
6. 試料の性質や実験条件を同時に記録することが困難で、試料に番号を付加し、データ

シートを別々に用いていた。

【0006】

本発明の課題はDNAマイクロアレイやスポッティング装置の構造等を根本的に見直し、DNAスポットを効率よくスポッティングした後、安定して短時間のうちに読み取り、解析結果が得られ、構成がシンプルで、極めて効率が高い低価格のシステムを提供することにある。

現在X、Yの2次元格子状に配列されているDNAマイクロアレイのスポットを1次元に配列させ、同時にガラス板を円盤形状に変更し、スポット位置を特定できるプリグループ、プリピット等の指標を設ける。このように構成した円盤状のプリグループにプローブDNAをスポッティングし作成したDNAマイクロディスクと、スポッティングするための装置を提供するための発明である。本発明は同じ発明者により出願中の特願2003-130596に用いるDNAマイクロアレイの基板に関し、特に基板にスポッティングする方法に関する発明である。

【課題を解決するための手段】

【0007】

本発明は下記の発明に係る。

A. 基板にプリグループを設け、前記プリグループにプローブDNAと接着性が良好な薄膜を設けた上で、前記プリグループの凸部または凹部にプローブDNAを含む液滴を配置して、液滴の表面張力によってグループに垂直な方向の広がり制限された状態でプリグループの接線方向に広がり、その状態でプローブDNAが基板上に結合させていることを特徴とするDNAマイクロアレイディスク。

【0008】

B. ディスク基板上的グループの凹あるいは凸部に、プローブDNAを含む液滴を配置するために、1) 前記グループの位置を検出する機構、2) プローブDNAを含む液滴を吐出できる機構により、グループ上にプローブDNAを含む液滴を配置することを特徴とするDNAマイクロディスクを作成するためのスポッティング装置。

【0009】

C. 基板上に薄膜からなる層を少なくとも1層以上設け、基板側から波長 λ_1 のレーザービームを照射し、プリグループの位置を検出するときには前記基板を照射したレーザービームの一部は透過し、前記基板上に配置されたDNAスポットを計測するために、検出波長 λ_2 のレーザービームを基板の反対側から照射したときには、一部が反射することを特徴とするDNAマイクロアレイディスク。

【0010】

D. ディスク基板上的プリグループの凹あるいは凸部に、プローブDNAを含む液滴を配置するために、1) 前記グループの位置を検出する機構、2) プローブDNAを含む液滴を吐出できる機構により、プリグループ上にプローブDNAを含む液滴を配置することを特徴とするDNAマイクロアレイディスクを作成するためのスポッティング装置において、液滴の吐出位置の制御、液滴の量の制御、を行うため、液滴の位置を検出する光学系、DNAマイクロディスク上に設けたプリグループを検出、液滴がプリグループ上にスポットを形成するようにするための制御系、ならびに機構系。

【0011】

E. 種類の異なるプローブDNAを効率よく基板上にスポッティングするため、プリグループとDNAプローブを含む液滴を吐出するインクジェット、液滴を滴下する吐出装置であるマイクロピペット、あるいは針状のツール、などの吐出器との相対位置を検出するとともに、複数の吐出器を設けた吐出ユニットを移動制御し、次々に異なる種類のプローブDNAをプリグループの所定の位置に配置するための機構系、光学系、サーボ系をからなるスポッティング装置。

【発明の効果】

【0012】

以上のように構成した本発明は、次に述べる効果を奏し、課題を解決することができる

。 DNAマイクロディスク上のプリグループにプローブDNAを正確にスポッティングしたDNAマイクロディスクを使用した場合は、読取ビームを1次元方向に走査すればよいので、読取速度を早くできる。そのため、DNAスポットを1回だけ走査すれば読取が完了し、従来の2次元走査による画像化を不要にした。

【0013】

さらに、基板にプリグループを設けたDNAマイクロディスクを用いたため、基板上に従来より多くのDNAスポットを設けることができ、例えば10万スポット以上のDNAスポットを有するDNAマイクロディスクを作ることができる。基板上に金などの薄膜を設け、その上にSiO₂などの薄膜を設けたため、基板上にレーザを照射したとき、その反射光量が大きくなり、DNAマイクロディスク基板上のDNAスポットを検出する時のS/Nが大きくとれる。

【0014】

また基板材料として樹脂を用いることが出来、全体システムを安価に構成できる。樹脂を基板材料に用いた時でも、基板の両面に対称に薄膜を設けたため、ハイブリダイゼーション時にも基板の反りが最小に抑圧できる。

スポッティング時に、スポッティング液を1種類ずつ別のタンクに収納し、前記タンクにスポッティング液の種類、名前等を表示する表示部を設けたので、スポッティング時に間違った液をスポッティングすることがない。

高速でスポッティングするため、1枚のDNAマイクロディスク基板にロータリーテーブルを複数個組み合わせて、スポッティングできるため、1つ当たりのスポッティング時間が節約でき、スポッティングの時間が減少した。

【発明を実施するための最良の形態】

【0015】

本発明においては現在2次元格子状に配列されているDNAマイクロアレイのスポットを同心円状あるいはスパイラル状の1次元に配列させ、同時にガラス板を円盤形状に変更し、スポット位置を特定できる指標を設ける。具体的には、ガラスディスク上のプリグループおよび、あるいは指標を設けた場所に正確にスポッティングを行い、1次元方向に走査し、歪無くDNAスポットを読み取ることが出来るDNAマイクロディスクと、前記DNAマイクロディスクにプローブDNAをスポッティングするための装置である。

【0016】

さらに、DNAマイクロディスク上に記録可能なゾーンを設け、作成条件と測定結果、プリグループにより位置決めされスポッティングされたスポットの位置を示すアドレス情報とスポッティング液名との対応関係を、スポッティングしたDNAマイクロディスク上に記録する。これによって、従来ガラス板と作成時のデータが別に保管されていたのを一体的に保存でき、“操作性、信頼性”とセキュリティが向上する。このための具体的制作方法を提供するためのものである。

【実施例】

【0017】

以下本発明の実施をするための最良の形態を具体的に示した実施例について図面とともに記載する。

以下、図1、図2、図3を用いて本発明における第1の実施例の概略構成を図示する。

【0018】

図1は、図2に示したDNAマイクロディスク基板にプローブDNAをスポッティングするための装置の構成を示すブロック図、図2はDNAマイクロディスク基板を示す図面である。

図1において、1はDNAマイクロディスク基板で、1aのプリグループを有している。そして14のディスクモータにより、回転制御される。8は前記基板にプローブDNAを吐出するための吐出装置で、実施例ではインクジェットを用いている。インクジェットの代わりにマイクロピペットあるいはペン先のようなツールを用いることも可能である。

前記インクジェットの位置を検出するためインクジェット吐出口に対して一定の位置に置かれた光検出器10（10a、10bの受光素子を有する）が設けられている。なお、スポッティングされてプリグループ上に固定されるDNAスポットの形状に関し、接線方向と直角の幅方向の大きさの比は、接線方向が大きく、2倍以上になることが実験により確かめられている。

【0019】

プローブDNAの液（スポッティング液）はインクジェットに設けられたタンクから、あるいは、11のスポッティング液供給チューブにより供給される。2はレーザであり、出射したレーザビームは3のエキスパンダあるいはコリメータレンズにより平行光に変換され、5のビームスプリッタを経て4の対物レンズにより1のDNAマイクロディスク上のプリグループ1aに焦点を結ぶ。前記プリグループ1aから反射した光は4の対物レンズ、5のビームスプリッタを経て、6のレンズにより、7a、7bの2分割セルを有する光検出器7に前記プリグループのファーフールド像が形成され、7a、7bの光検出器の差動信号により、4の対物レンズから出射したビームスポットと、1aのプリグループの相対位置が検出できる。

【0020】

また1aのプリグループの透過光は10a、10bの2つの光検出器からなる光検出器10に入射し、光検出器10a、10bの差動信号は、9のインクジェット吐出口とプリグループの相対位置を示す。12はトラバースユニットAであり、インクジェット8、光検出器10、および、2のレーザ、3のビームエキスパンダ、4の対物レンズ、4a、4bのアクチュエータ、5のビームスプリッタ、6のレンズ、7の光検出器から構成される光学系および機構系は、トラバースユニットAとして一体に構成され、13のトラバースモータAにより1のDNAマイクロディスク基板の半径方向に可動制御される。

【0021】

4の対物レンズをDNAマイクロディスク基板の半径方向に位置を移動制御し、1aのプリグループに対物レンズから出射したレーザビームを追従させるための制御系をトラッキングサーボと呼び、8のインクジェットの位置を10の光検出器により検出し、プリグループ1a上にインクジェットから吐出される液を配置する制御系を、トラバースサーボと呼ぶ。

【0022】

図2において、DNAマイクロディスク基板1には、ディスクモータにより回転させるための中心穴22と、凹凸状のプリグループ1aが設けられている。プリグループを作成する方法としては、ガラス基板を選択的にエッチングし作成することができる。また、プリグループの凸部を印刷により設けることもでき、印刷により作成した場合は、印刷のインクが付着しない基板上に、DNAスポットを配置する。もちろん樹脂を用い、CD等の光ディスクと同様な方法を用い、インジェクションモールドにより作成することも可能である。またプリグループを接線方向に切断して、プリピットとし、プリグループの代わりに用いることも出来る。

【0023】

プローブDNAをスポッティングする表面上に、例えばSiO₂あるいは金などの、レーザビームを照射したときに蛍光を発しない薄膜を設ける。さらにSiO₂あるいは金などの薄膜上に有機物等からなる膜を作成する。この薄膜はスポッティングするプローブDNAとの密着を促進するためのものであり、例えば、ポリ-L-リシン（Poly-L-lysine: PLLと略記）水溶液で処理することで形成される薄膜などを用いることが可能である。また、基板の表面だけに薄膜を設けると、温度湿度環境の変化により基板が反ることがあるので、基板の両面に対称に薄膜を設けた方が好ましい。このときも、基板面から入射したレーザビームが基板を透過するように薄膜を設けた。

【0024】

プリグループの位置を示すためのアドレス情報をプリグループに附加している。図2においてプリグループを同心円状あるいはスパイラル状に作成し、27に示すように同心円

のプリグループの一部分を切断し、プリグループのある部分とない部分を設け、プリグループの位置を示すアドレス情報とした。またDNAマイクロディスク基板の最外周部、あるいは内周部に26のVマークと称する回転位置を示すマークを設けた。図2aは図2の一部を拡大して示したアドレス情報とVマーク拡大図である。実際のプリグループは円周に沿っているため、扇型になるが、ここでは簡単のため直線として示した。なお図2との対応関係は同じ番号を与え、示している。

このように構成したDNAマイクロディスク基板に、次に述べるスポッティングによるDNAスポットを設けたものをDNAマイクロディスクと呼ぶ。

【0025】

次に、Vマークの構成を詳細に述べる。図2aにおいて、このVマーク26は、プリグループの回転方向の角度を示しており、本実施例では、Vマーク26の間の回転方向の角度にプリグループのアドレス情報を示すプリビット列(26a、26b...)を設けた。このようにVマークを設けることにより、アドレス情報のディスク円周上の位置を検出することが容易になる。例えば26aを起点0度とすると、26bは円周上の0.5度の位置を示す指標となるわけである。

このように、Vマークがディスク上の回転角度を表す絶対番地を構成することになるわけである。例えば半径方向に4ビットを表すプリビット列(26a、26b...)を構成し、それらを用いて、角度を番地に対応させた。なお図2aの28の矢印はDNAマイクロディスク基板の半径方向を、矢印29は接線方向を示している。27のプリグループのアドレス情報は半径方向に複数本配置されるプリグループの半径方向の位置を示すアドレス情報を示している。(例えば最外周を1番目のプリグループとし、内周方向に2、3、4となる4ビットの番地を与える)アドレス情報、角度情報を記録する時には、よく知られた変調方法、例えばFM変調、位相変調、を用いる。Vマークの示す角度情報は、Vマーク検出器15により読み取られ、プリグループの位置情報は、プリグループを走査する対物レンズ4の出射光ビームにより読み取られる。この間の時間軸上での時間ズレが存在する時には、もちろんスポッティング装置のCPU36により補正される。

【0026】

また図2において、24の第1のデータ記録部はスポッティング時に、あるいはスポッティング終了時に、スポッティング液をデータ記録に用いるために濃淡マークが生成できるインク等にする。そしてこのインク等により作製されたスポットの位置、大きさ、位相などを変化させ情報を記録するためのものである。そして、DNAスポットを作成する時の条件などの情報を、DNAスポットを基板上に設けるときに、情報により変調された記録スポットの列を作成し記録する。

特に、スポッティングする位置を示すアドレス情報と、スポッティング液に名称との対応関係を記録することが、有効である。

このときに用いることのできる変調方法としては、記録スポットを2値信号からなる情報信号に応じて、記録スポットの位置を変化させる方法、あるいは情報信号に応じて、記録スポットの周期を変化させる方法などを用いることが可能である。また記録スポットを構成する材料としては、有機材料あるいは、無機材料などから作られたインク等を使用できる。

また、言うまでもないが、スポッティングする位置を示すDNAマイクロアレイ基板上のアドレス情報と、スポッティング液の名称の対応関係は、別のメモリーに記録し、DNAマイクロアレイ基板に付属させることもできる。この時にはDNAマイクロアレイ基板にバーコードなどにより、識別情報を設け、メモリーとの関係付けをメモリーに記録すればよい。

【0027】

この第1の記録部分とは別に第2の記録可能部25を基板上に設け、DNAスポットの読取を行った後に、読み取られたDNAスポットの有する情報データを追記することも可能にした。

記録可能部分には、従来から記録可能光ディスクに用いられている色素あるいは、金属

薄膜を基板上に蒸着あるいはスパッタ手段により形成することができる。第2のデータ記録部はプリグループ上に設け、かつ前記プリグループに番地情報を設け、他の部分と識別を容易にすることが望ましい。このデータ記録部に、スポッティングする位置を示すアドレス情報と、スポッティング液に名称との対応関係を記録することももちろん可能であり、そのときには、スポッティング中に取得された情報を、一時的に別のメモリーに記憶させ、スポッティングが終了後にまとめて記録することも可能である。

【0028】

次に動作について、図2のDNAマイクロディスク、図3のスポッティング装置制御系ブロック図、および図4のスポッティング時の反射光量分布変化を示すグラフを用いて説明する。

図1、図3において、4の対物レンズから出射したレーザビームは、4aのトラッキングアクチュエータにより1のDNAマイクロディスク基板上のプリグループ1aを追従する。このため、7の光検出器を二分割した7a、7bの光検出器の出力差は30の差動増幅器1の出力として得られ、31の位相補償器1によりトラッキングサーボ系の応答を適正化し、32の駆動増幅器1により4aのトラッキングアクチュエータを位置制御する。また4の対物レンズからの出射する光の一部は、1のDNAマイクロディスク基板を透過し、10aの光検出器、10bからなる光検出器10により検出され、その差は33の差動増幅器2により出力される。33の出力は34の位相補償器2によりトラバースサーボ系の応答を適正化し、35の駆動増幅器1により、13のトラバースモータAを駆動制御し、13のトラバースユニットAを位置制御する。この結果、9のインクジェット吐出口の位置は常に1aのプリグループと対向する位置に追従するように制御され、インクジェットから吐出する液は1aのプリグループ上に吐出し配置される。

【0029】

インクジェットから吐出されプリグループ上に付着した液滴を4の対物レンズから出射されたビームスポットにより照射する。そしてプリグループおよび付着した液滴により反射され、7の光検出器により検出される。図4はこのときの様子を示すグラフである。図4のグラフの横軸はDNAマイクロディスクの回転位置を示し、縦軸は光検出器7により検出される反射光量を示す。

図4は液滴がプリグループ上に付着した時に、液滴により反射光量が著しく低下することとを示している。これは図4における45の矢印により示される。

【0030】

液滴が吐出され、プリグループ上に付着した時点を光検出器7により検出可能である。実施例では、光検出器7の出力を37の加算器により検出し、その加算器出力38はCPU36に供給され、液滴が付着したかどうか、また付着した位置を7の光検出器の出力により測定できる。インクジェットの吐出位置精度は $\pm 30 \mu\text{m}$ 程度であるので、プリグループの半径方向のピッチ（トラックピッチと呼ぶ）を $30 \mu\text{m}$ とした時には、前記した光検出器7の出力を測定することにより13のトラバースユニットAの位置を制御し、液滴がプリグループ上に配置されるように制御可能である。またプリグループの接線方向の位置精度に関しては、インクジェットの取り付け位置を調整することにより最適位置に調整できる。

【0031】

次にインクジェットの取り付け位置調整方法に関し、図1と図3を用い具体的に説明する。図1においてレーザから出射したレーザ光は、対物レンズを経て1aのプリグループ上に焦点を結ぶ。このとき9のインクジェット噴射口からスポッティング液を吐出する。

このときの様子を図4に示す。図4において、1のDNAマイクロディスクを回転させ8のインクジェットからスポッティング液滴を43、44に示すスポッティング液吐出時点において、吐出させ、プリグループ1aから反射し対物レンズを経由して7の光検出器に戻る光量を、反射光量をグラフの縦軸42にプロットした。横軸は時間経過をDNAマイクロディスク基板回転時間経過41として示す。

【0032】

液滴がプリグループ上に付着すると、図4において、45の反射光量低下期間に示すように、プリグループから反射し対物レンズを経由して7の光検出器に戻る光量が約1/10となることがわかる。7の光検出器により1aのプリグループから反射した光量分布を測定し、1aのプリグループの中心に吐出した液滴が配置されるように、8のインクジェットの位置を調整する。調整はインクジェットからの吐出を何回か繰り返して行い、最適の位置に調整する。

7の光検出器の出力は30の差動増幅器により光量分布を測定し、37の加算器の出力を、36のCPUに供給することにより光量を測定し、13のトラバースユニットAの位置を制御しながら行う。

なお14のディスクモータは1のDNAマイクロディスクを回転駆動する。

【0033】

尚、4の対物レンズは、4bの対物レンズアクチュエータにより、DNAマイクロディスク基板に対して垂直方向に可動させることができ、1のDNAマイクロディスク基板と4の対物レンズの距離を検出し、一定に制御するフォーカス制御系（図示せず）を構成することも可能である。このときには、4の対物レンズと1のDNAマイクロディスクの相対位置を検出し、検出した位置が一定となるように4の対物レンズの位置（DNAマイクロディスク基板に対して垂直方向）を4bのフォーカシングアクチュエータにより駆動制御する。

【0034】

次に図5を用い、インクジェットとスポッティング液を保有したタンク（インクジェットに含む）を、複数収納したインクジェットユニット53をトラバースユニット2に載置し、複数種類のプローブDNAの液滴を順次インクジェット51から吐出し、DNAマイクロディスク上のプリグループに配置する方法を説明する。

ここで、インクジェットを複数個設けたインクジェットユニット53を12-1のトラバースユニットBに載置し、インクジェットユニットはトラバースユニットBに対して55の移送ギアにより移動可能にした。この時、51のインクジェットを複数個設け、各々のインクジェットに各々異なる成分を有するプローブDNAの液が吐出できるようにしている。そして各インクジェットからプローブDNAを含む液をスポッティング可能に構成した。そして10の光検出器とインクジェットユニットに設けられたインクジェットの吐出口52は常に同じ位置関係を保つように、12-1のトラバースユニットBに対してインクジェットユニット53を54のインクジェットユニット移動方向に示す方向に移動制御する。

【0035】

図6、7はスポッティング装置の別の一実施例を示す構成図である。図6は側面からみた構成図、図7は上面からみた構成図である。図6において、図1との共通点が多いため、図1において使用した番号はそのまま同じものを使用している。

最初に大まかな動作について述べる。DNAマイクロディスク基板のプリグループ上にプローブDNAの液滴をインクジェットから吐出して、液滴をプリグループ状に配置するため、DNAマイクロディスクを回転させる。同時にインクジェットが複数個取り付けられたロータリーテーブルを回転させ、所望のインクジェットがプリグループ上の指定した位置になるように、DNAマイクロディスク基板の位置を62の移送方向に変位させる。プリグループ上の指定した位置にインクジェットが来た時、インクジェットから液滴が吐出され、プリグループ上に配置される。

【0036】

次に詳細な動作について説明する。

図6において60以上の番号を有するものは、図1の構成に対して新たに附加したものである。

61はディスクモータ14を62の移送方向に移送するディスクモータ移送装置である。もちろん14のディスクモータにクランプされている1のDNAマイクロディスク基板は、14のディスクモータと一体に移送される。

4の対物レンズから出射したレーザビームは1aのプリグループにより回折され、その反射光のファーフールドパターンが7の光検出器により受光される。7a、7bの光検出器の差動信号は、前記したレーザビームが1のDNAマイクロディスク上に形成するスポットとプリグループの相対位置を示すので、差動信号が0になるように4aのトラッキングアクチュエータと13-2のトラバースモータCを制御し、前記ビームスポットが1aのプリグループを追従するように動作する。12-2のトラバースユニットCは図5に示した12のトラバースユニットAとは異なり、インクジェットと光検出器10が71のマルチインクジェットロータリーテーブルに取り付けられている。

【0037】

4の対物レンズから出射したレーザビームは1aのプリグループにより回折され、そのファーフールドパターンが10の光検出器により受光される。

10a、10bの光検出器の差動信号は、前記したレーザビームが1のDNAマイクロディスク基板上に形成するスポットと、プリグループの相対位置を示すので、61のディスクモータ移送装置を制御し、インクジェット9の吐出口が1aのプリグループ上に位置するように追従制御する。

【0038】

つまり対物レンズを出射したレーザビームスポットは、4aのトラッキングアクチュエータおよび13-2のトラバースモータCによりプリグループを追従し、DNAマイクロディスクの位置は、インクジェットの吐出口の位置に追従するわけである。インクジェットからスポッティング液を吐出するタイミングは14のVマーク検出器の出力およびプリグループに設けたプリグループの場所を特定するアドレス情報を、7の光検出器の出力を用いて行う。Vマーク検出器15としては、例えばフォトカップラー、レーザビームをVマークピット列に沿って半径方向に走査する光ヘッド等を用いることが出来る。フォトカップラーを用いた時には、光を基板の一方から照射し、基板を透過した光をもう一方の光検出器により受光し、Vマークを読み取る。

走査光ヘッドを用いた時には、光ヘッドからレーザビームをVマークに走査しながら照射し、基板を透過した光を別の光検出器により受光し、Vマークを読み取る。なお、走査方向は図2の28に示す半径方向である。走査方法は、レーザビームを照射するためのレンズの位置を変位させることにより行う。

【0039】

このように制御した上で、図7における71のマルチインクジェットロータリーテーブルに載置されたインクジェット8が、1のDNAマイクロディスク基板上のプリグループに正確に液滴を、吐出し、配置する。71のマルチインクジェットロータリーテーブルの回転は図8のロータリーテーブル回転制御装置83により回転制御される。なお図示していないが、インクジェットから液滴を吐出するための制御信号は、図8のCPU36が、前記したVマーク検出器15の出力およびプリグループに設けたプリグループの場所を特定するアドレス情報を、7の光検出器により受け取り、インクジェットの吐出タイミングを制御する。また13-2のトラバースモータCは、31の位相補償器1の出力を81の位相補償器、82の駆動増幅器3を経由した駆動信号により制御される。

図9に図7のマルチスポッティング装置を用いるインクジェットの構造を示した。91はスポッティング液としてプローブDNAを貯蔵するタンク、90はインクジェットであり、接続孔93により、91のタンクに挿入し、接続される。

なお92は接続シール、94は吐出口、95は96の加圧デバイスの圧力を受け、94の吐出口からスポッティング液を吐出するための加圧室である。

【0040】

インクジェットのタンクにはタンクに有するスポッティング液の種類を表示するバーコード等の表示部97が設けてある。

プリグループ上の規定の位置にスポッティングする時には、必ず前記バーコードを読み取り、プリグループ上のアドレス情報とともに表示部が表示した情報をメモリーに記録する。プリグループのアドレス情報は、図3の38の加算器出力を用いて読み取ることも出

来る。もちろん、図6のVマーク検出器の出力からDNAマイクロディスク基板上的のスポットティング位置を検出することも可能としている。このメモリーの内容は最終的には、DNAマイクロディスク基板上的の記録領域(図2の領域24あるいは25)に転記し、スポットティングが終了したDNAマイクロディスク基板上的のどの位置に、どのようなスポットティング液が配置されているかを、知ることが出来るようにしてある。

【0041】

以上のごとく構成することにより、基板上的のプリグループの位置を検出し、スポットティング液としてプローブDNAをプリグループ上にスポットティングすることが可能となり、基板上的の予め決められたアドレス情報をもつ位置にプローブDNAを設けることが出来、かつプリグループによりプローブDNAが基板上的に広がることを規制できるため、プローブDNAを高密度で配置することが可能になった。図1ではプリグループの凸の部分にスポットティング液を配置しているが、プリグループの凹の部分に配置してもよい。この場合には、スポットティングされたスポットティング液はプリグループの凹の部分に沿って配置される。

また、プリグループには予め番地情報27を附加させることができるため、プローブDNAを正確に示すことが出来る。

【0042】

なお以上の実施例においては、プローブDNAをスポットティングする時には、基板上的のプリグループの位置を検出するため基板側から例えば波長780nmのレーザービームを2のレーザーより照射し、透過したレーザービームを用いて、基板上的のプリグループ1aの位置を検出し、前記したごとく位置決めを行う。基板に薄膜を設けたときには、基板側から照射したレーザービームが基板を透過する波長をもつレーザーを選択し、使用する。

【0043】

基板上的のDNAプローブに試験試料であるcDNAを塗布し、プローブDNAとハイブリダイゼーション反応が生じた後、生成されたDNAスポットに含まれる蛍光を検出する時には、例えば波長約650nm, 約530nm, 約400nmのレーザービームを基板より照射し、その反射光を用いる。このため、基板にはSiO₂、金などの層を設けている。

【0044】

基板に設けた金、SiO₂の薄膜の機能について説明する。図10において、横軸100はSiO₂膜の膜厚[nm]を示し、縦軸101は基板表面上の電場強度のポリカーボネート基板のみの場合に対する比を示し、金、SiO₂の薄膜を設けたときと、何も設けなかったときの比較値をあらわした。102は波長563nmのレーザー光を、103は波長652nm、104は波長532nmのレーザー光を用いた時の特性である。

図10では、金の薄膜の上にSiO₂の薄膜を配置した。金の膜厚を50nmとした時SiO₂膜上にできる電場強度比を、SiO₂膜の厚さを変化させて計算した結果を図10の縦軸に示したものである。

この結果、例えばSiO₂の膜厚70nmにおいて、縦軸の強度比が5倍になっている事がわかる。これは前記した膜構造にしたとき、膜の形成した面から532nmの波長の光を照射したときの反射光量が5倍になることを示すわけである。

図10のグラフにおいては、金の薄膜の厚さを50nmとした時、SiO₂膜厚を70nmとすることにより、SiO₂表面の電場が薄膜の無い時に比べ約5倍になることがわかる。このように構成することにより、蛍光体を含んだDNAスポットにレーザービームを照射しその反射光を観測すれば、光量が増加し、反射光のS/Nが向上する効果が得られる。

【0045】

基板にスポットティングする場合においては、スポットティングする基板表面に微小な油脂成分等の汚れを取り除くことが重要である。そのため、スポットティングする直前にプリグループを照射するレーザービームの出力を増大させることにより、基板表面の温度を上昇させ、汚れ成分を取り除くことができる。

このために、位置検出用のレーザビームを用いることが可能であるが、別のレーザを準備し、スポッティングに先立って基板表面の温度を一時的に上昇させた後、スポッティングを行うことも出来る。

【0046】

基板としては円盤状とした実施例を用いて説明したが、円盤状ではなく、長方形などの形状でも適用可能である。もちろんプリグループを円周状ではなく、直線状の線分を集合させた形状でも利用可能である。

またインクジェット的位置を検出するために、インクジェットに直接光検出器を取り付けることも出来る。もちろん光を用いた位置検出方法以外の方法、例えば磁気検出を用いることも可能である。スポッティング液としては、cDNAなどのプローブDNAを用いた実施例により説明したが、スポッティング液としては、蛋白など、液状のものであれば、何にでも適用できる。

【図面の簡単な説明】**【0047】**

【図1】図1は、本発明の一実施例であるスポッティング装置の概略構成を示す図である。

【図2】図2は、本発明のDNAマイクロディスク基板の概略構成を示す図である。

【図2a】図2aは、本発明のDNAマイクロディスク基板の一部を拡大したアドレス情報とVマーク拡大図である。

【図3】図3は、本発明の一実施例であるスポッティング装置の制御系ブロック図を示す図である。

【図4】図4は、スポッティング時の反射光量分布変化を示すグラフである。

【図5】図5は複数のスポッティング液であるプローブDNA吐出口を有するスポッティング装置の概略図である。

【図6】図6はマルチスポッティング装置を示す概略図の側面図である。

【図7】図7はマルチスポッティング装置を示す概略図の上面図である。

【図8】図8はマルチスポッティング装置の制御系を示すブロック図である。

【図9】図9はインクジェットとスポッティング液のタンクを示す概略図である。

【図10】図10はDNAマイクロディスク基板上に設けたSiO₂膜上に出来る電場強度の計算結果を示すグラフである。

【図11】図11は従来のDNAマイクロアレイ構成図である。

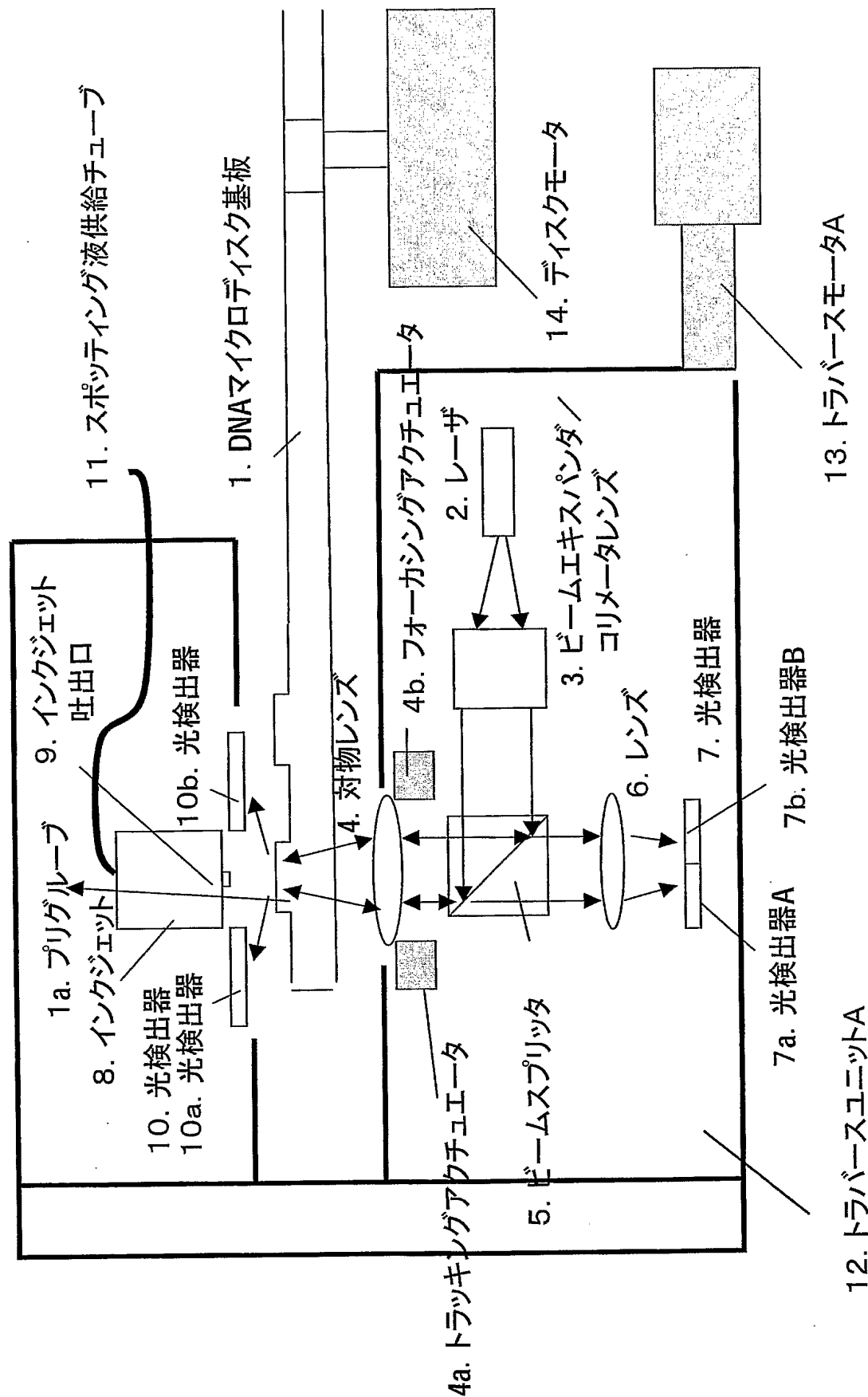
【符号の説明】**【0048】**

- 1 DNAマイクロディスク基板
- 1a プリグループ
- 2 レーザ
- 3 ビームエキスパンダ
- 4 対物レンズ
- 4a トラッキングアクチュエータ
- 4b フォーカシングアクチュエータ
- 5 ビームスプリッタ
- 6 レンズ
- 7 光検出器
- 7a 光検出器A
- 7b 光検出器B
- 8 インクジェット
- 9 インクジェット吐出口
- 10 光検出器
- 10a 光検出器A
- 10b 光検出器B

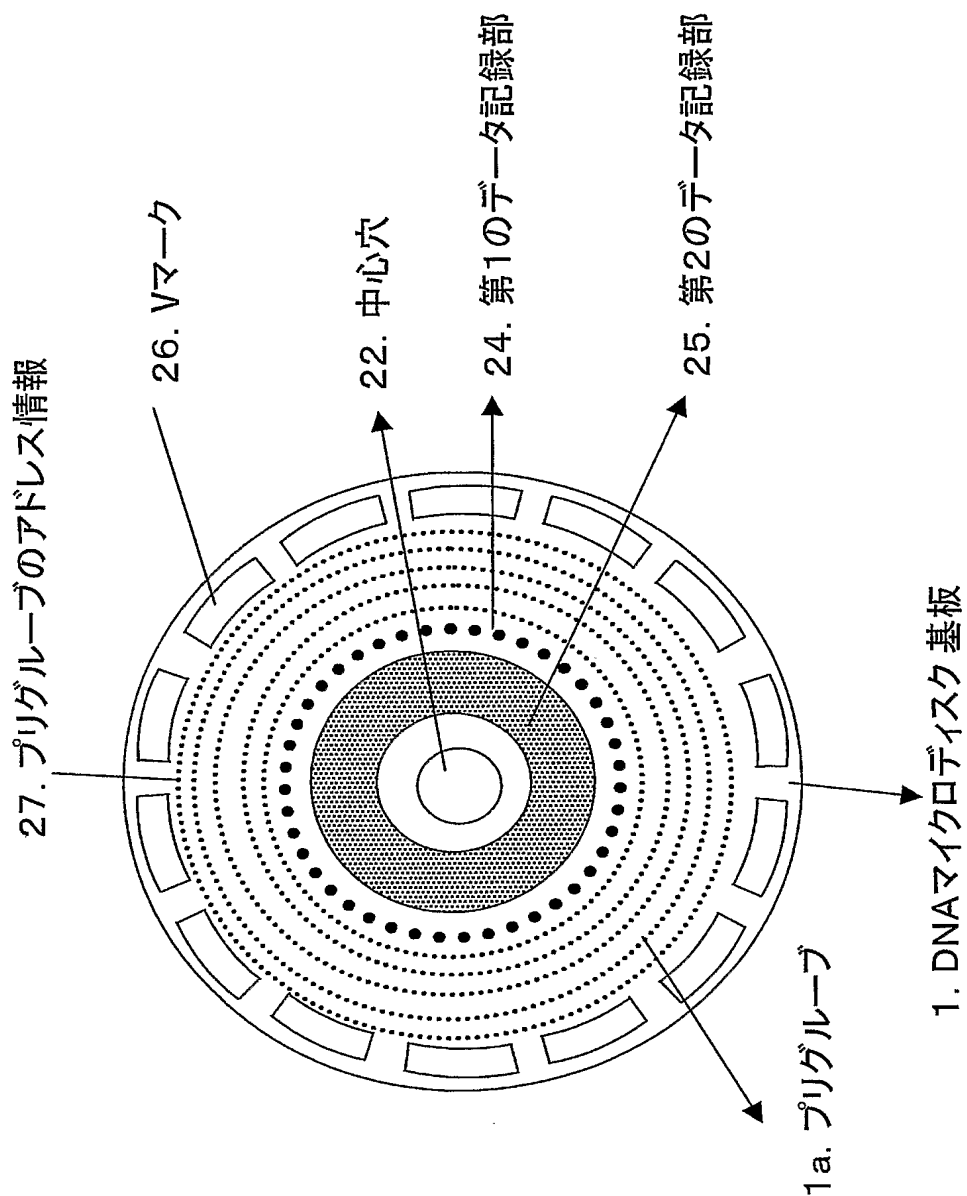
1 1	スポッティング液供給チューブ
1 2	トラバースユニット A
1 2 - 1	トラバースユニット B
1 2 - 2	トラバースユニット C
1 3	トラバースモータ A
1 3 - 1	トラバースモータ B
1 3 - 2	トラバースモータ C
1 4	ディスクモータ
1 5	Vマーク検出器
2 2	中心穴
2 4	第 1 のデータ記録部
2 5	第 2 のデータ記録部
2 6	Vマーク
2 6 a	Vマークピット a 列
2 6 b	Vマークピット b 列
2 7	プリグループのアドレス情報
2 8	半径方向矢印
2 9	接線方向矢印
3 0	差動増幅器 1
3 1	位相補償器 1
3 2	駆動増幅器 1
3 3	差動増幅器 2
3 4	位相補償器 2
3 5	駆動増幅器 2
3 6	C P U
3 7	加算器
3 8	加算器出力
3 9	ディスクモータ制御器
4 1	図 4 グラフ横軸 DNAマイクロディスク回転時間経過
4 2	図 4 グラフ縦軸 反射光量
4 3	スポッティング液吐出時点
4 4	スポッティング液吐出時点
4 5	反射光量低下期間
5 1	インクジェットユニット 5 3 に取り付けられたインクジェット
5 2	インクジェット吐出口
5 3	インクジェットユニット
5 4	インクジェットユニット移動方向
5 5	移送ギア
6 1	ディスクモータ移送装置
6 2	移送方向
7 1	マルチインクジェットロータリーテーブル
8 1	位相補償器 3
8 2	駆動増幅器 3
9 0	インクジェット A
9 1	タンク
9 2	接続シール
9 3	接続孔
9 4	吐出口
9 5	加圧室
9 6	加圧デバイス

9 7	スポッティング液名表示部
1 0 0	図 1 0 横軸：S i O ₂ 膜の膜厚 [n m]
1 0 1	図 1 0 縦軸：基板表面上の電場強度
1 0 2	波長 5 6 3 n m の特性
1 0 3	波長 6 5 3 n m の特性
1 0 4	波長 5 3 2 n m の特性
1 1 1	D N A スポット列
1 1 2	ガラス基板

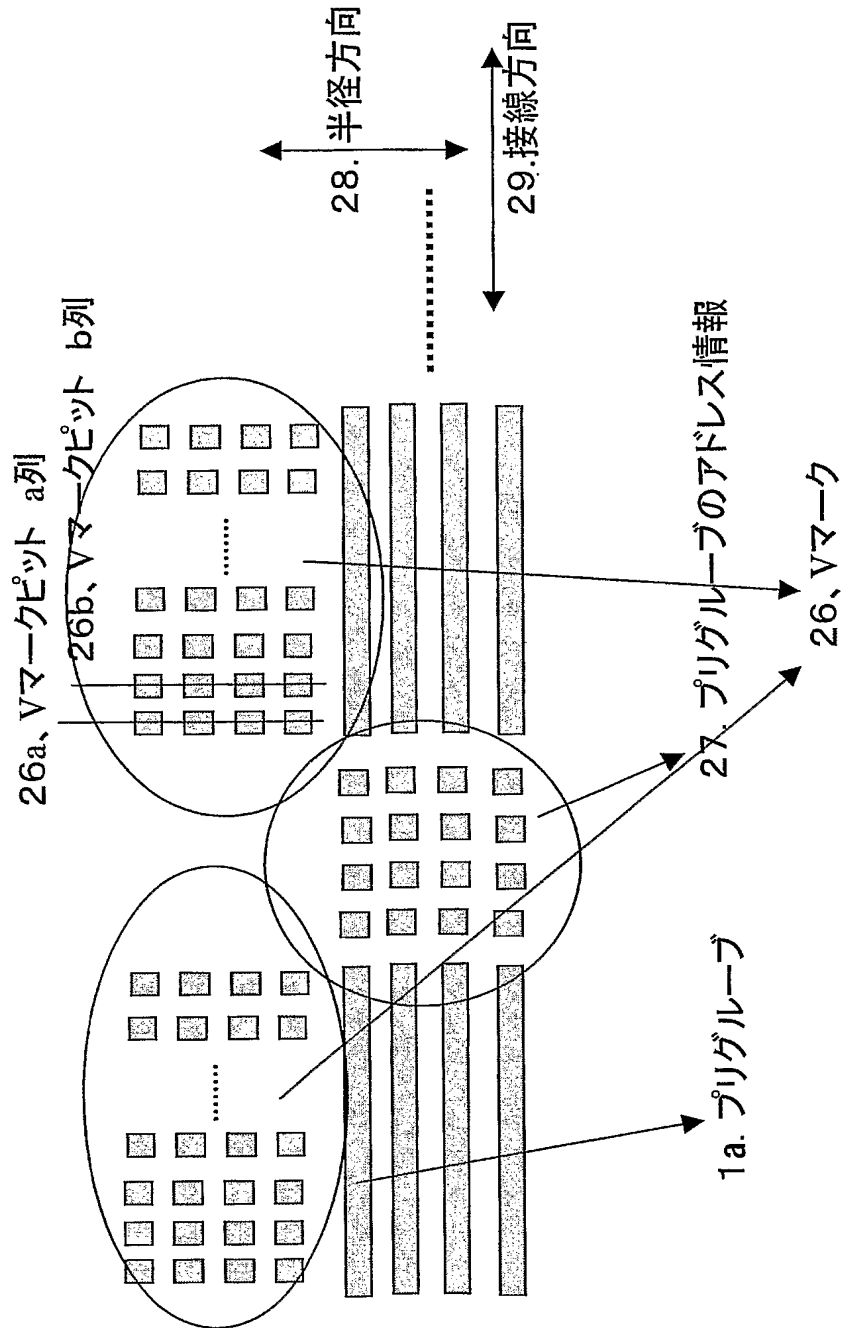
【書類名】 図面
【図 1】



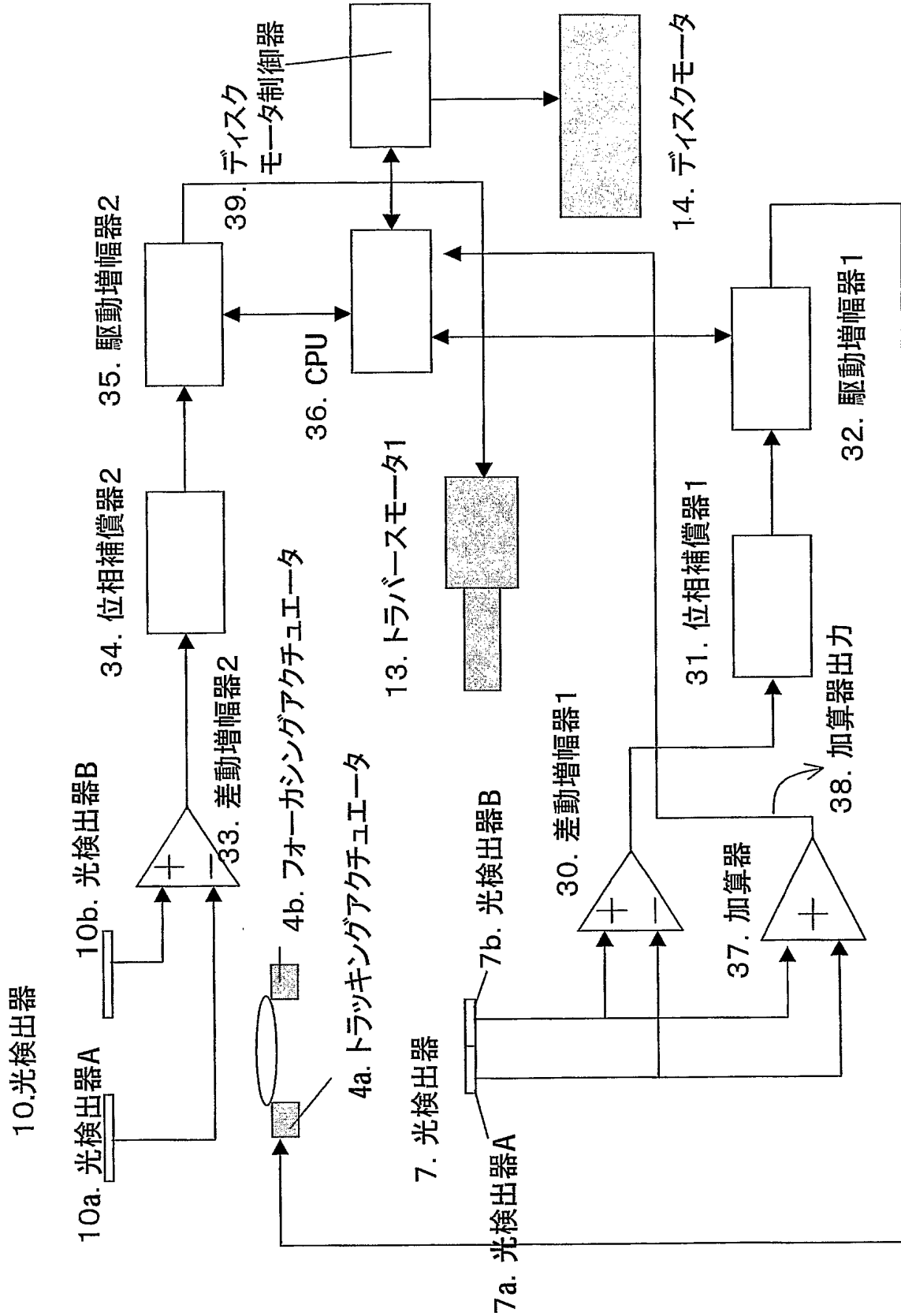
【図 2】



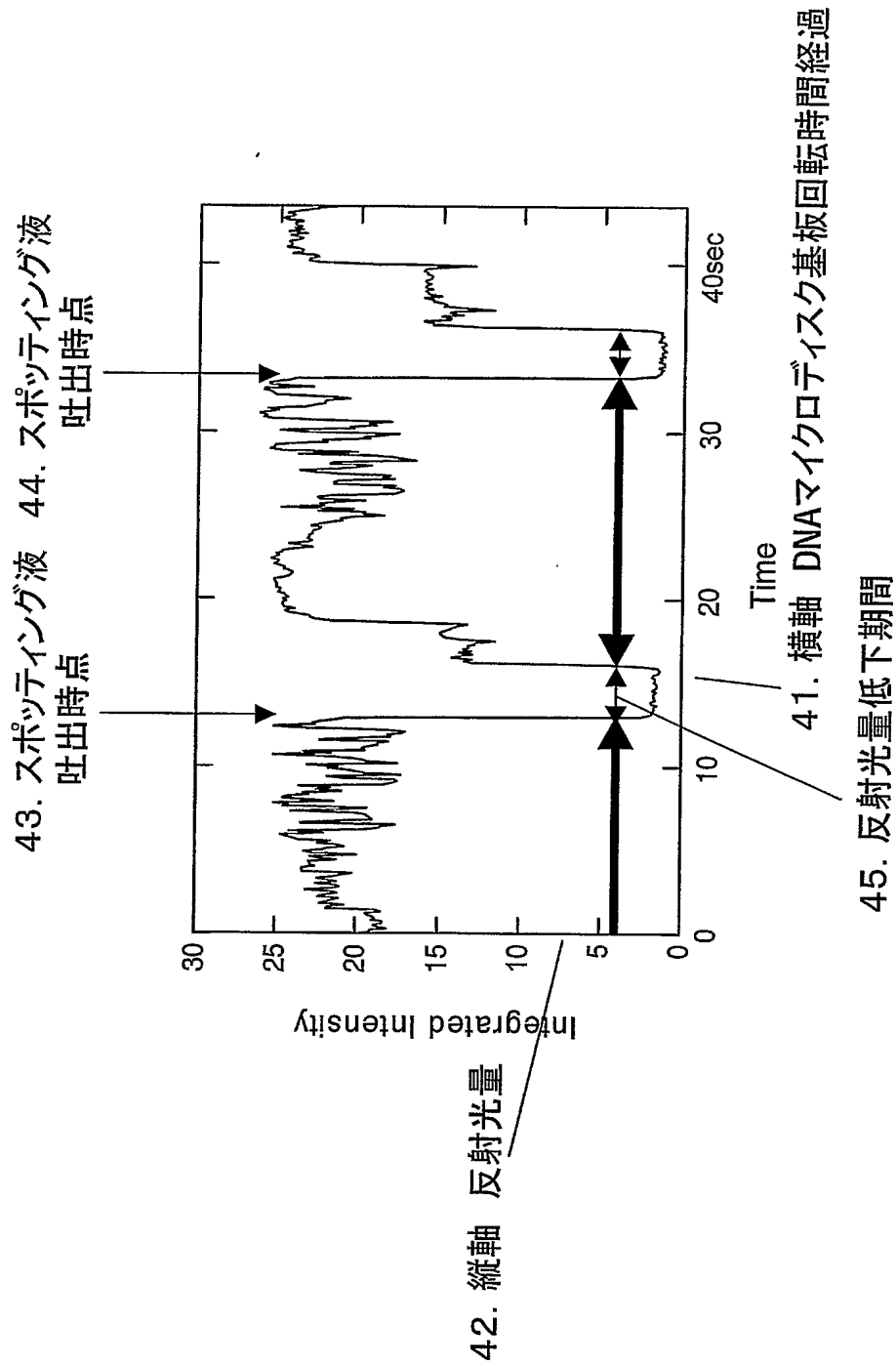
【図 2 a】



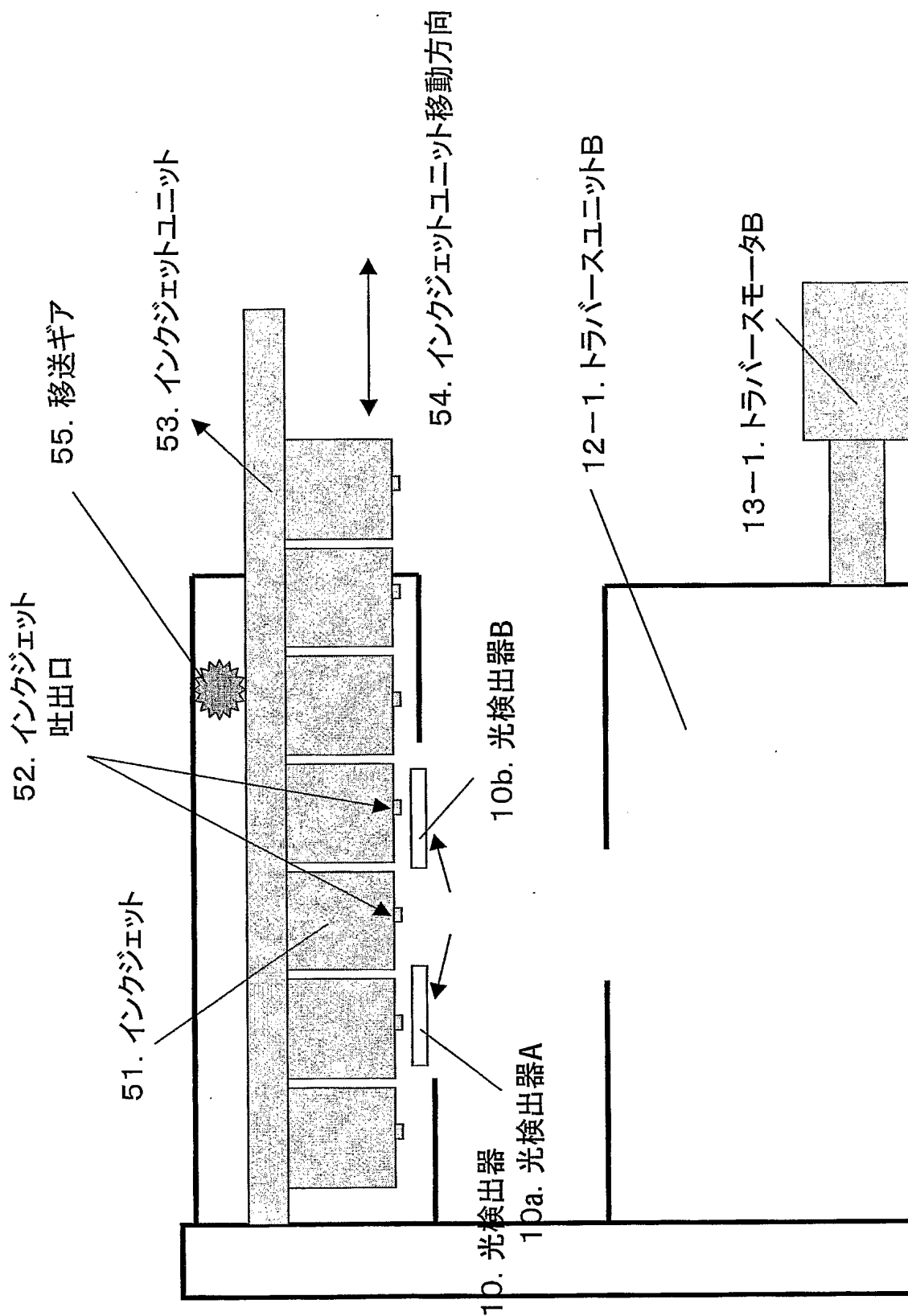
【図 3】



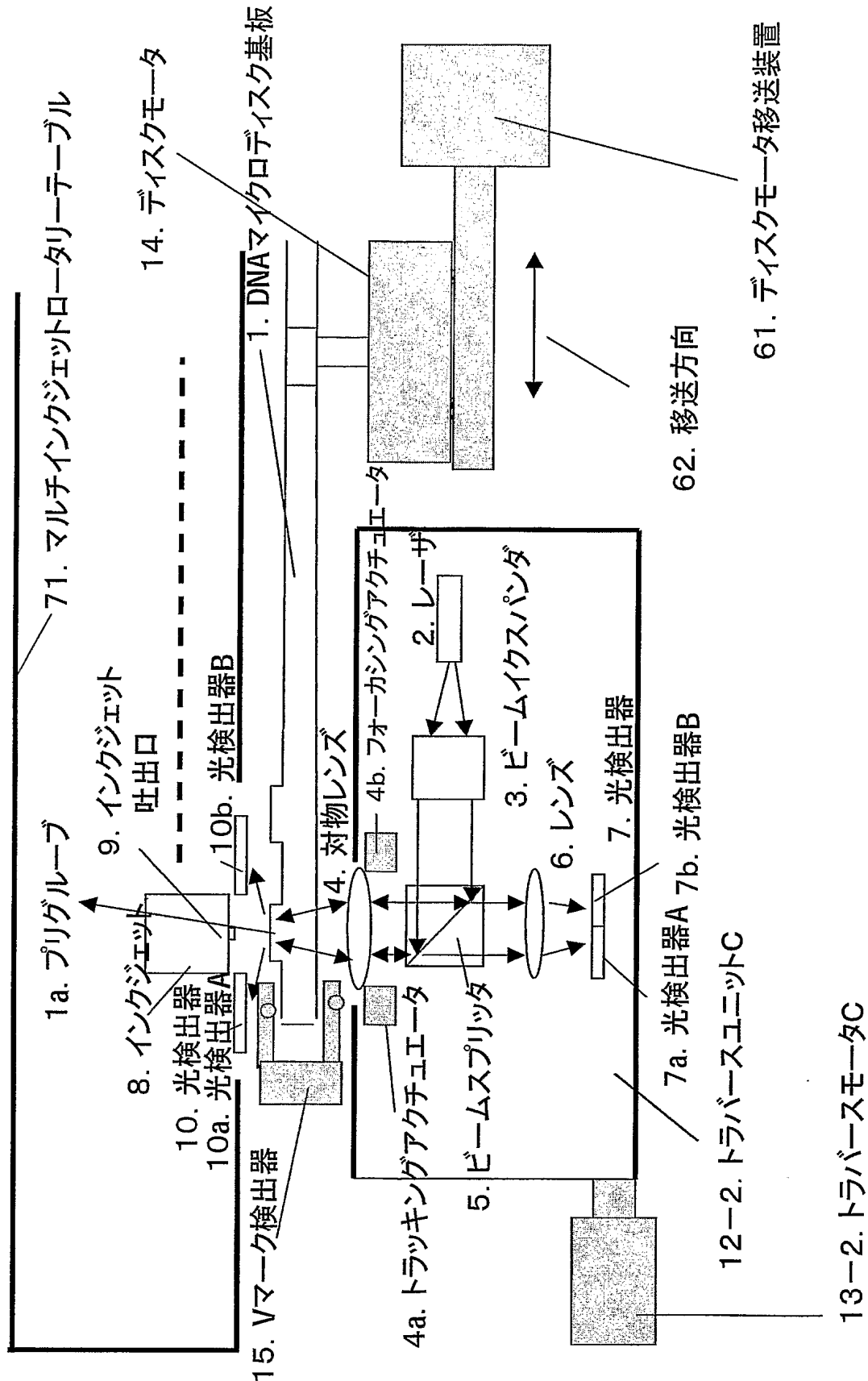
【図 4】



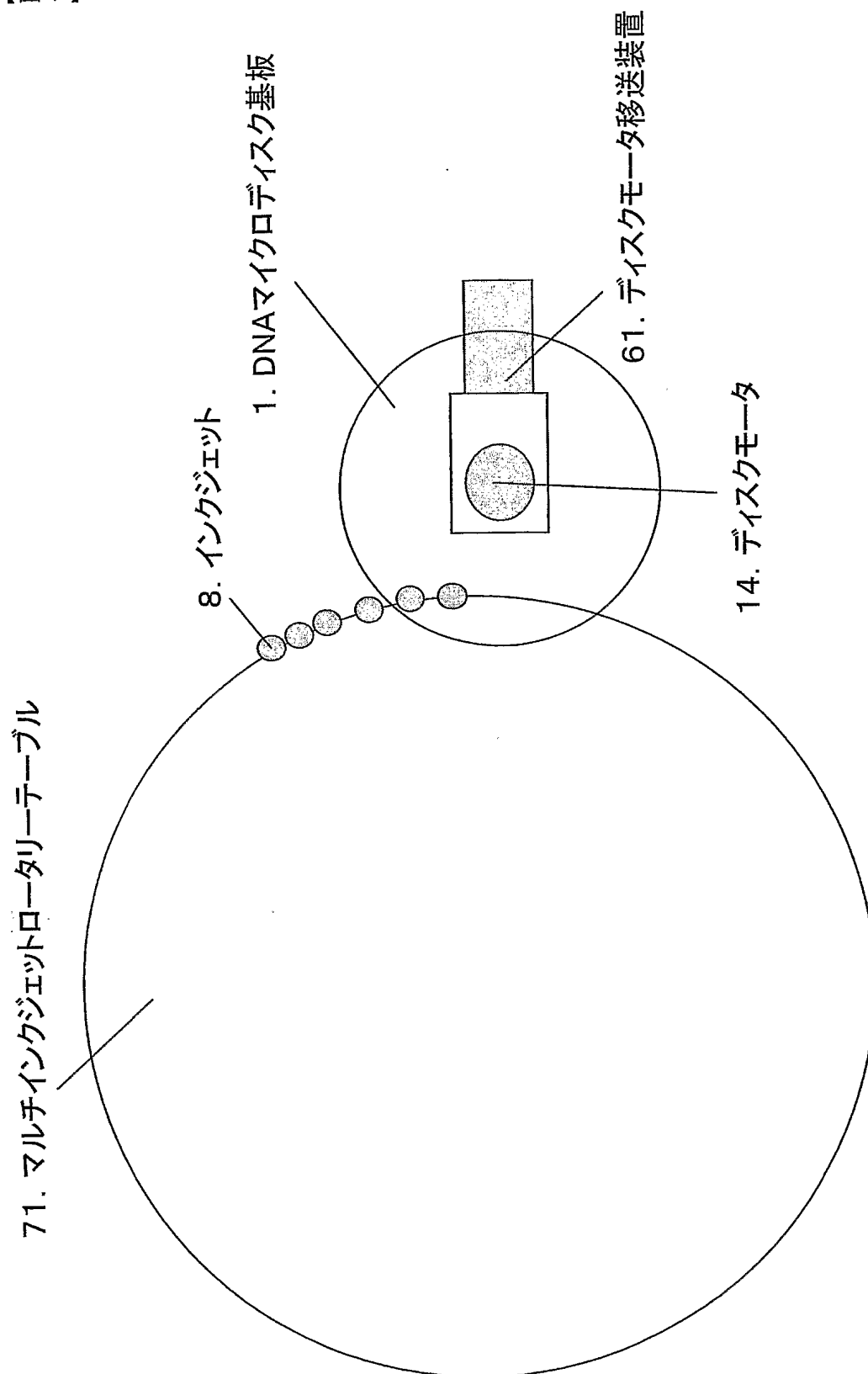
【図 5】



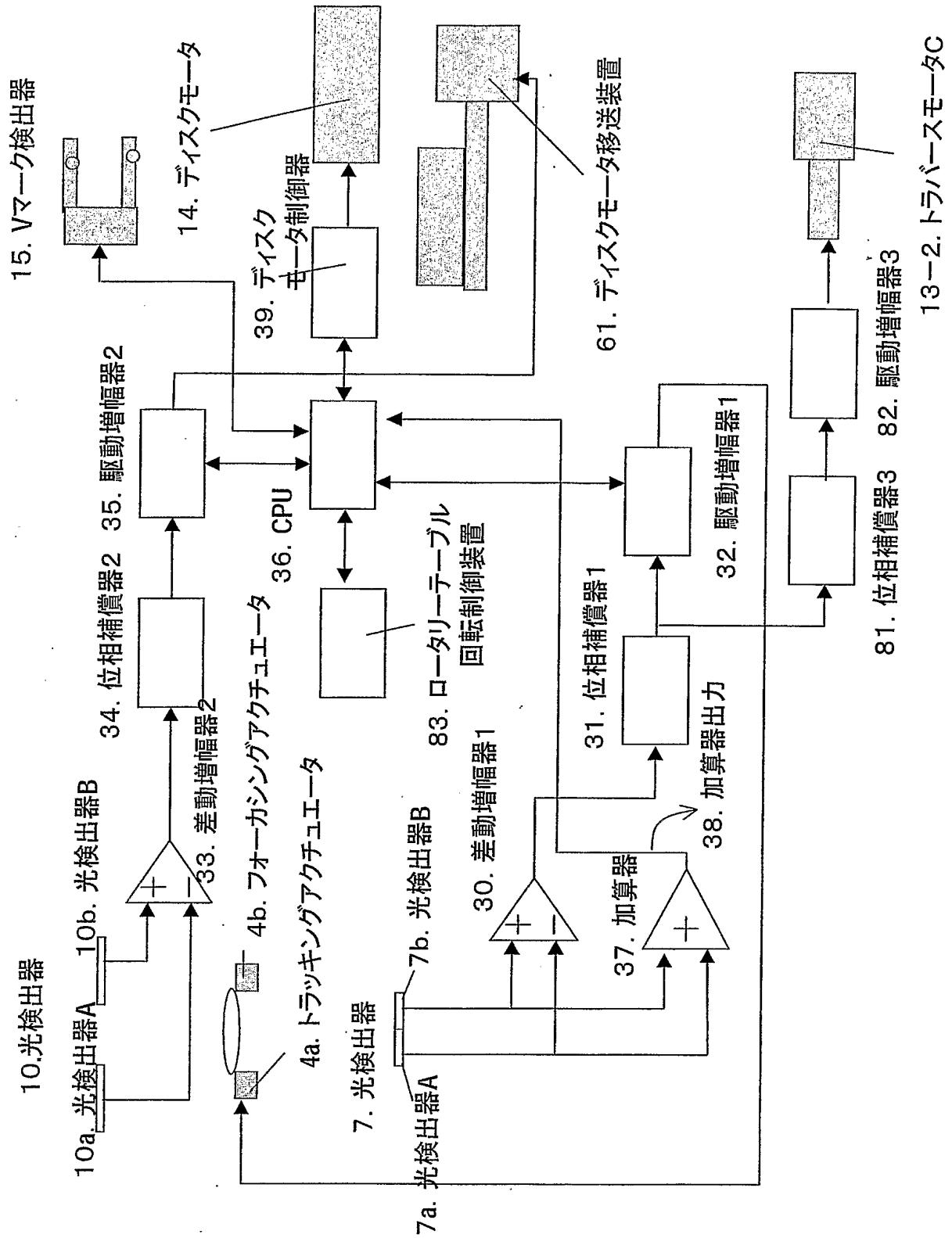
【図 6】



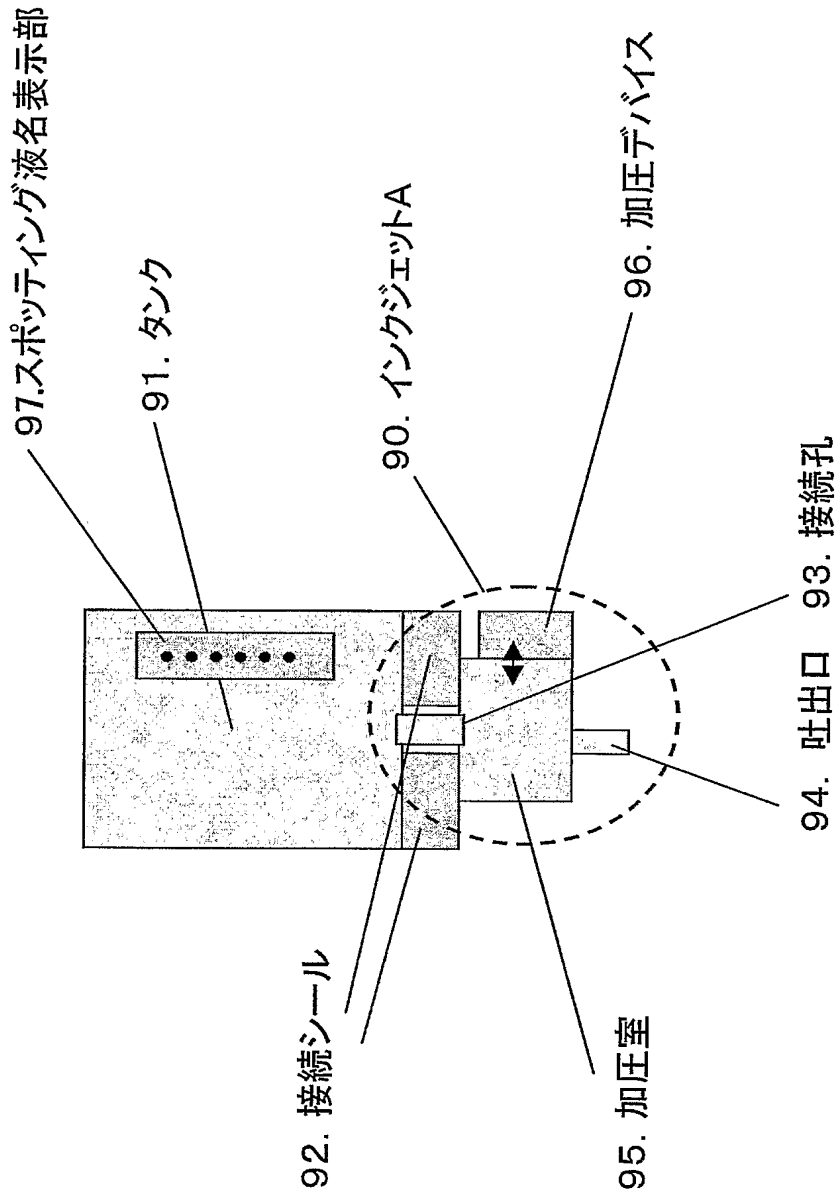
【図 7】



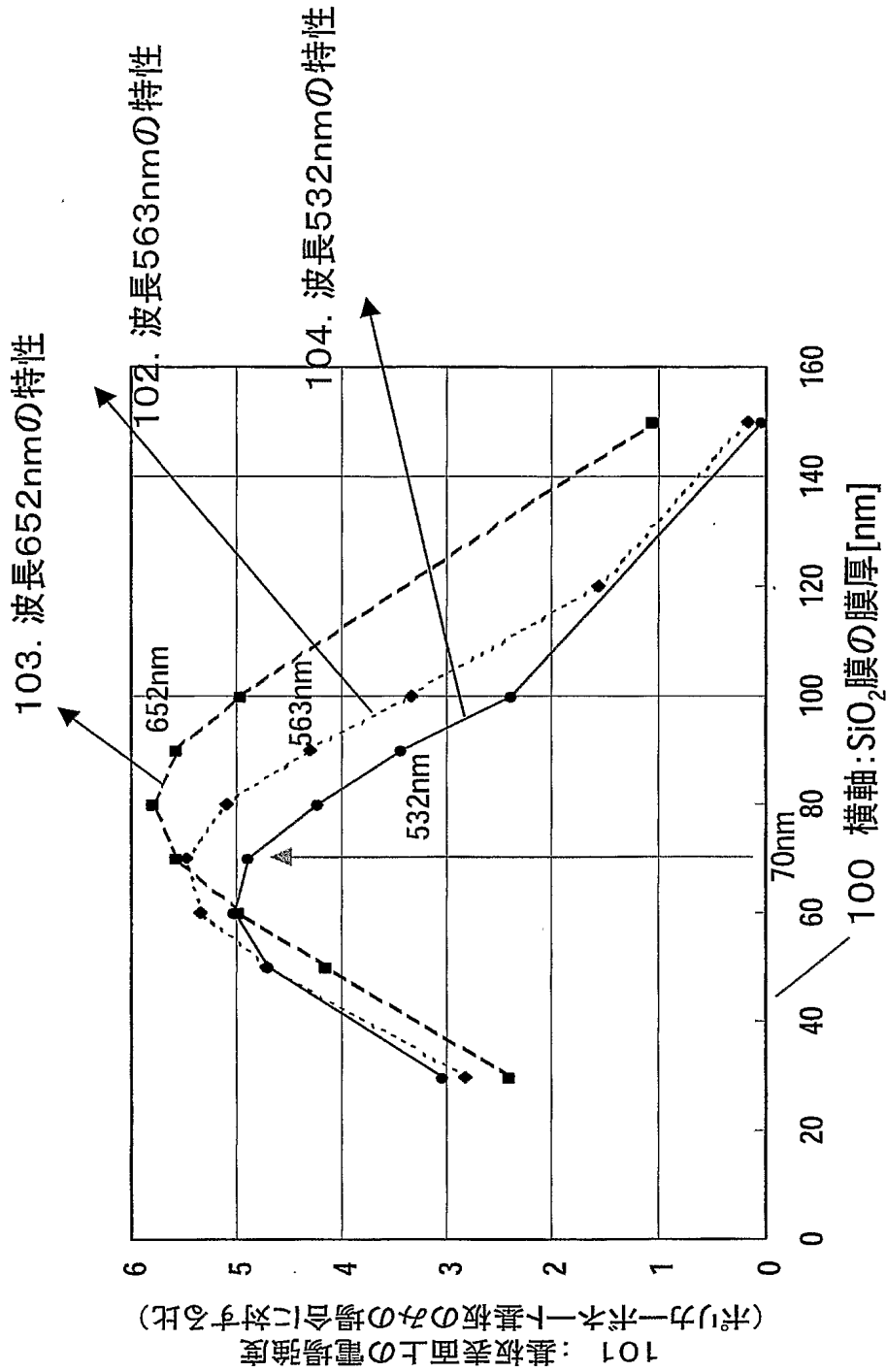
【図 8】



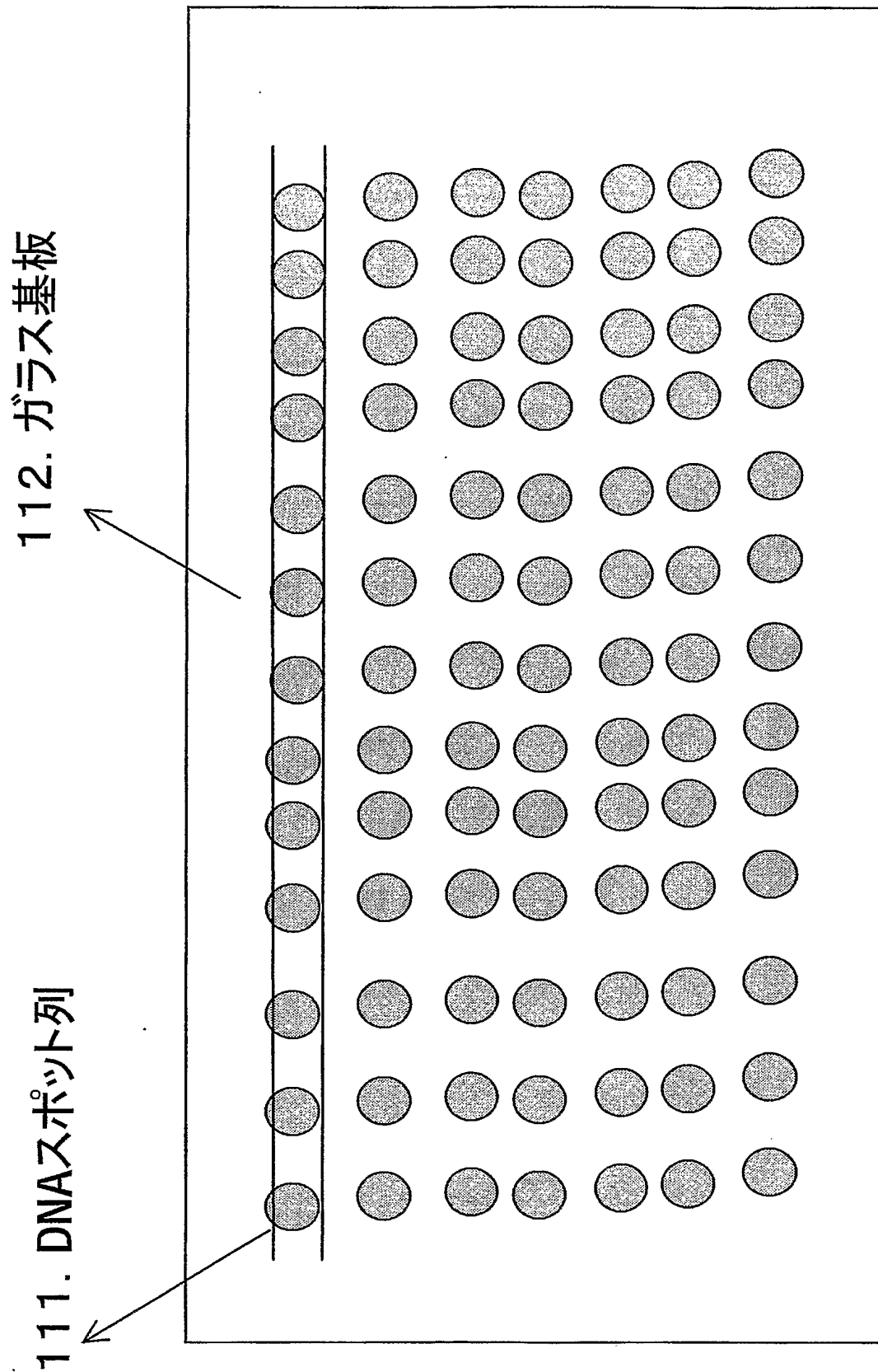
【図 9】



【図 10】



【図 11】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 DNAマイクロディスク基板に高速度、かつ安価にて、プローブDNAをスポットティングし、解析のためのDNAマイクロディスクを提供する。

【解決手段】 従来X, Yの2次元格子状に配列されているDNAマイクロアレイのスポットを1次元に配列させ、同時にガラス板を円盤形状に変更し、スポット位置を特定できるプリグループ、プリピット等の指標を設け、このように構成した円盤状のプリグループにプローブDNAをスポットティングし作成したDNAマイクロディスクと、スポットティングするための装置。

【選択図】 図1

認定・付加情報

特許出願の番号	特願 2004-061307
受付番号	50400361938
書類名	特許願
担当官	神田 美恵 7397
作成日	平成16年 3月 5日

<認定情報・付加情報>

【提出日】 平成16年 3月 4日

特願 2 0 0 4 - 0 6 1 3 0 7

ページ : 1/E

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[5 0 3 1 6 9 3 7 8]

1. 変更年月日

2 0 0 3 年 5 月 8 日

[変更理由]

新規登録

住 所

大阪府枚方市楠葉美咲 3 - 2 - 6

氏 名

今中 良一